

Taq'Ozyme Purple Mix 2
(avec supplément de $MgCl_2$)
200 rxns de 50 µl ou 400 rxns de 25 µl

RÉFÉRENCE : OZYA007-200

VOLUME : **Taq'Ozyme Purple Mix 2** : 5 x 1 ml
$MgCl_2$ (25 mM) : 1 ml

STOCKAGE : -20°C ou +4°C

DURÉE DE VIE : à réception, un an à -20°C ou 3 mois à +4°C

DESCRIPTIF :

Taq'Ozyme Purple Mix 2 est un mélange 2X prêt à l'emploi. Il facilite l'utilisation et diminue les erreurs de pipettage. Le dépôt des produits de PCR sur gel est direct grâce à la présence de colorants. Deux colorants inertes, un rouge et un bleu sont inclus au mélange permettant un contrôle visuel de la distribution et le suivi de la migration en gel. Ces colorants n'interfèrent pas avec les applications en aval.



+33 (0)1 34 60 24 24 - info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

Taq'Ozyme Purple Mix 2 est une nouvelle formulation du **Taq'Ozyme Purple Mix**. Il fonctionne dans toutes les applications validées avec le **Taq'Ozyme Purple Mix** (ex. PCR sur colonies) et permet, de plus, d'amplifier jusqu'à 5 kb à partir des matrices d'ADN complexes (ex. ADN génomique humain) et/ou riches en GC. Ce nouveau mix PCR inclut du $MgCl_2$ à concentration optimale et est prêt à l'emploi. Le magnesium demeure néanmoins adjustable au-delà de 1,7 mM. Une solution de $MgCl_2$ à 25 mM est fournie séparément.

Migration des colorants en agarose	Gel 0,5-1,5%	Gel 2-3%
Marqueur Bleu	4-10 Kb	200-750 pb
Marqueur Rouge	1-2 Kb	125-200 pb

DÉFINITION DE L'UNITÉ :

Une unité est définie comme la quantité d'enzyme qui incorpore 10 nmoles de dNTP dans un fragment d'ADN en 30 min à 74°C.

PROTOCOLE STANDARD :

Ce protocole est adapté pour une réaction de 50 µl à partir de matrices purifiées. Les amorces ont préférentiellement une température de fusion (Tm) proche de 60°C. C'est un point de départ pour les optimisations (voir "Optimisations" dans le Manuel d'Utilisation en ligne).



+33 (0)1 34 60 24 24 - info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

Après décongélation complète de chaque réactif, bien homogénéiser à l'aide d'un vortex, puis centrifuger brièvement tous les réactifs avant leur utilisation.

1. Les réactifs sont mélangés dans un micro-tube stérile, dans l'ordre suivant :

Réactif	Volume	Conc. finale
Taq'Ozyme Purple Mix 2	25 µl	1X
Amorce sens (ex : 20 µM)	0,5 µl	0,2 µM
Amorce anti-sens (ex : 20 µM)	0,5 µl	0,2 µM
Matrice d'ADN	Plasmide : 10 ng ADNg : 200 ng ADNc non dilué§ : < 5µl	< 500 ng/ 50 µl
Eau stérile redistillée	q.s.p* 50 µl	–
Volume final	50 µl	–

§ : aliquot d'un mélange réactionnel de transcription inverse
q.s.p* : quantité suffisante pour

OZYME

+33 (0)1 34 60 24 24 - info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

2. Le mélange réactionnel est vortexé doucement, puis centrifugé brièvement pour rassembler l'échantillon au fond du tube.

3. Programmation du thermocycleur :

Etape	Température	Temps	Nombre de cycles
Dénaturation initiale	95°C	2 min	1
Dénaturation	95°C	30 sec	25-35
Hybridation	55°C*	30 sec	
Elongation	72°C	1 min§	
Extension finale	72°C	5 min	1
Stockage (optionnel)	4°C	variable	1

* : ou Tm-5°C sur le Tm le plus bas des deux amorces, si le Tm des amorces est différent de 60°C

§ : 1 min/Kb pour les amplicons >1 Kb


+33 (0)1 34 60 24 24 - info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

+33 (0)1 34 60 24 24 - info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

TABLEAU D'OPTIMISATION DE $MgCl_2$ (OPTIONNEL) :

L'optimisation de la concentration en $MgCl_2$ peut être nécessaire pour certaines amorces. Le volume de $MgCl_2$ (25 mM) à ajouter est indiqué ci dessous :

Concentration finale en $MgCl_2$	Volume de $MgCl_2$ (25 mM) à ajouter dans 50 µl
1 ,7 mM	-
2,2 mM	1 µl
2,7 mM	2 µl

PRÉCAUTIONS :

Conserver le mélange réactionnel sur la glace jusqu'au démarrage des cycles de PCR. **Eviter les congélations/ décongélations répétées**. **Taq'Ozyme Purple Mix 2** n'est pas adapté pour des amplicons de plus 5 kb. Si besoin, voir la section « produits associés »

COMPOSANTS :

5 x 1 ml Taq'Ozyme Purple Mix 2 2X
1 ml $MgCl_2$ (25 mM)

COMPOSITION 1X :

$(NH_4)_2SO_4$ 16 mM ; Tris HCl 50 mM, pH 9,2 ; $MgCl_2$ 1,7 mM ; Brij58 0,075% ; dNTP 200 µM ; ADN polymérase Taq 2,5 unités (dans 25 µl de mix) ; traces de colorants rouge et bleu ; stabilisateurs d'enzymes et amplificateurs de PCR.

MANUEL D'UTILISATION :

www.ozyme.fr/proto-taqpurplemix2



PRODUITS ASSOCIÉS :

Taq'Ozyme
Taq'Ozyme HS
EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix (PCR > 5 Kb)
ExactLadder® Ladder DNA PreMix 100 bp Plus
ExactLadder® Ladder DNA PreMix 2 Log
ExactLadder® DNA PCR PreMix
dNTP PreMix - 4 x 10 mM
dNTP PreMix - 4 x 25 mM

POUR COMMANDER :

www.ozyme.fr

OZYME
Parc d'Activités du Pas du lac
10, Avenue Ampère
78180 Montigny-Le-Bretonneux
France
Email : commande@ozyme.fr
Tél : +33 (0) 1 34 60 15 16
Fax : +33 (0) 1 34 60 92 12

NUMÉRO DE FICHE TECHNIQUE :

OZYA007-200-0814

PRODUIT À USAGE DE RECHERCHE UNIQUEMENT